

EH7

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
1. Mai 2003 (01.05.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/035122 A1

(51) Internationale Patentklassifikation: A61L 24/00,
24/08, 24/04, C08L 5/08, 5/02

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/11880

(22) Internationales Anmeldedatum:
24. Oktober 2002 (24.10.2002)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
101 52 407.2 24. Oktober 2001 (24.10.2001) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): AESCULAP AG & CO. KG [DE/DE]; Am Aescu-
lap-Platz, 78532 Tuttlingen/Donau (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): GOLDMANN, Hel-
mut [DE/DE]; Risibergstrasse 5, 78532 Tuttlingen (DE).
WEGMANN, Jürgen [DE/DE]; Goethestrasse 10, 78573
Wurmlingen (DE).

(74) Anwalt: RUFF, Michael; Ruff, Wilhelm, Beier, Dauster
& Partner, Kronenstrasse 30, 70174 Stuttgart (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW,
MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG,
SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT,
SE, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: COMPOSITION CONSISTING OF A POLYMER CONTAINING AMINO GROUPS AND AN ALDEHYDE CON-
TAINING AT LEAST THREE ALDEHYDE GROUPS

(54) Bezeichnung: ZUSAMMENSETZUNG AUS EINEM AMINORUPPEN TRAGENDEN POLYMER UND EINEM ALDE-
HYD MIT MINDESTENS DREI ALDEHYDGRUPPEN

(57) Abstract: The invention relates to a composition consisting of at least two, especially two, biocompatible chemically cross-
linkable components, especially for glueing biological tissue, comprising at least the following components: a) an aqueous solution
of at least one polymer containing amino groups, b) an aqueous solution of at least one aldehyde containing at least three aldehyde
groups. Said composition is free of albumin. The invention also relates to the use of said composition as a surgical tissue adhesive
and to a kit consisting of two substantially separate containers containing the components of said composition.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft eine Zusammensetzung aus mindestens zwei, insbesondere zwei, biokompatiblen,
untereinander chemisch vernetzbaren Komponenten, insbesondere zum Verkleben von biologischem Gewebe, umfassend mindestens
folgende Komponenten: a) wässrige Lösung mindestens eines aminogruppentragenden Polymers, b) wässrige Lösung mindestens
eines Aldehyds mit mindestens drei Aldehydgruppen, wobei die Zusammensetzung frei von Eiweiß ist. Die Erfindung betrifft wei-
terhin eine Bereitstellung der Zusammensetzung zur Verwendung als chirurgischer Gewebekleber sowie einen Kit, bestehend aus
zwei im wesentlich getrennten Behältnissen, die Komponenten der Zusammensetzung enthalten.

BEST AVAILABLE COPY



WO 03/035122 A1

Beschreibung

5 ZUSAMMENSETZUNG AUS EINEM AMINORUPPEN TRAGENDEN POLYMER UND EINEM
ALDEHYD MIT MINDESTENS DREI ALDEHYDGRUPPEN

Die Erfindung betrifft eine Zusammensetzung aus mindestens zwei,
insbesondere zwei, biokompatiblen, untereinander chemisch
10 vernetzbaren Komponenten, insbesondere zum Verkleben von
biologischem Gewebe, umfassend mindestens folgende Komponenten:
a) wässrige Lösung mindestens eines aminogruppentragenden
Polymers
b) wässrige Lösung mindestens eines Aldehyds mit mindestens drei
15 Aldehydgruppen.

In der Chirurgie werden zum Zusammenfügen von getrennten
Gewebeteilen hauptsächlich Nahtmaterialien und Klammern verwendet.
Diese Techniken stoßen jedoch vor allem in der minimal invasiven
20 Chirurgie, zu welcher unter anderem die Laparoskopie, die
Thorakoskopie, die Arthroskopie, die Kardiochirurgie sowie die
intraluminale Endoskopie zählen, auf ihre Grenzen. In diesen Bereichen
ist die Anwendung von Gewebeadhäsiven und Sealants einfacher,
schneller und sicherer. Mehrere Patente beschreiben synthetische und
25 natürliche Polymer- oder Makromersysteme, die zum Verkleben von
Weichgewebe, zum Abdichten von Luft- und Flüssigkeitsleckagen in
Organen und Blutgefäßen angewendet werden können.

Die auf dem Markt kommerziell erhältlichen Fibrinkleber bestehen unter
30 anderem aus humanen oder/und bovinen Plasmaproteinen, die
hinsichtlich der Übertragung von Infektionen ein erhebliches
Gesundheitsrisiko darstellen. Zudem ist ihre Haftkraft oft unzureichend.

- Im Vergleich zu Fibrinklebern weisen Hydrogele deutlich höhere
cohesive wie auch adhäsive Eigenschaften auf. Besonders geeignet
sind Zusammensetzungen, die in flüssigem Zustand auf das Gewebe
aufgebracht werden können und dann durch Ausbildung kovalenter
5 Bindungen innerhalb kurzer Zeit aushärten. Die in situ Aushärtung
beruht in der Regel auf der Vernetzung von Makromersystemen und
kann durch radikalische Polymerisation oder durch chemische Reaktion
mit bi- oder multifunktionellen Vernetzungsreagenzien erfolgen.
- 10 Die radikalische Vernetzung kann durch Licht- oder Wärmequellen
sowie über oxidative Radikalbildung mit anorganischen Persulfaten oder
Enzymen ausgelöst werden. In den US-Patenten 6,156,345, Chudzik et
al., US 6,083,524, Sawhney et al. und US 6,060,582, Hubbel et al.,
werden synthetische Makromere mit radikalisch polymerisierbaren
15 Endgruppen beschrieben, deren Polymerisation durch Bestrahlung mit
UV-Licht in situ auf dem Gewebe initiiert wird. Neben synthetischen
Polymeren können auf diese Weise auch viskose Lösungen von
Kollagen und Kollagenderivaten vernetzt werden (US 6,183,498 B1,
Devore et al., US 5,874,537 Kelman et al.). Aufgrund der zusätzlich
20 benötigten Lichtquelle ist die Technik sehr aufwendig und teuer. Als
Alternative zur UV-Aktivierung kann eine Polymerisation auch mit Hilfe
einer Wärmequelle ausgelöst werden. Die erforderlichen Temperaturen
beschädigen allerdings gesunde Zellen im Gewebe und töten diese
häufig ab. Prinzipiell ist die Beschädigung von gesundem Gewebe bei
25 den meisten radikalischen Polymerisationen ein Problem, da diese
exotherm verlaufen, d.h., während der Polymerisation wird Wärme an
die Umgebung abgegeben.
- Als Alternative zur radikalischen Polymerisation können Makromere
30 auch über reaktive Gruppen chemisch vernetzt werden. Vor allem
Carbonyl- wie auch bestimmte Carboxylreaktionen besitzen bezüglich
der Kinetik die gewünschten Eigenschaften, um eine schnelle Gelierung

- der Komponenten zu gewährleisten. In US-Patent 6,051,648, Rhee et al., werden synthetische Polymere mit N-Hydroxysuccinimid aktivierten Carboxylgruppen beschrieben, die unter Abspaltung des N-Hydroxysuccinimids mit nukleophilen multifunktionellen Polymeren vernetzen. Durch die fehlende Stabilität der aktivierten Carboxylgruppen in wässriger Lösung müssen hierbei vorgeformte Patches angewendet werden, was gerade in der minimal invasiven Chirurgie erhebliche Nachteile mit sich bringt.
- 10 Freie Lysineinheiten in Polypeptiden und Proteinen bilden durch die Reaktion mit Di- oder Polyaldehyden Schiff'sche Basen aus. Kowanko beschreibt in US-Patent 5,385,606 eine adhäsive Zusammensetzung bestehend aus humanen oder tierischen Proteinen und einem Di- oder Polyaldehyd, wobei die Vernetzung bevorzugt mit Glutaraldehyd
- 15 durchgeführt wird. Die Verwendung von Glutaraldehyd ist jedoch kritisch. Vries et al. (Abstract Book of the Second Annual Meeting of the WHS, Richmond, USA p. 51, 1992) konnten nachweisen, daß mit Glutaraldehyd vernetzte Gelatine toxische Wirkung auf Zellen hatte, was bei reiner Gelatine nicht der Fall ist.
- 20 In US-Patent 6,156,488 hingegen beschreibt Tardy et al. einen biokompatiblen Gewebekleber bestehend aus einer wässrigen Kollagenlösung und einer wässrigen Polyaldehydlösung und vermeidet somit die Verwendung von kleinen toxischen Molekülen zur Vernetzung.
- 25 Ein Gewebekleber aus oxidiertem Dextran oder Stärke und modifizierter Gelatine wird auch von Mo et al. in J. Biomater, Sci. Polymer Edn. 2000, 11, 341-351 beschrieben. Dextran ist in vielen Medizinprodukten enthalten und wird zum Beispiel in Wunddressings in oxidierte Form als vernetzende Komponente verwendet (Schacht et al, US-Patent
- 30 6,132,759). Die makromolekularen Vernetzungsreagenzien werden dabei durch Oxidation von Dextran oder Stärke mit Natriumperiodat hergestellt. Diese Reaktion wurde unter anderem von Bernstein et al.

(Natl. Cancer Inst. 1978, 60, 379-384) beschrieben und ist Stand der Technik. Die Verwendung von Kollagen in der Medizin ist dagegen bezüglich der Infektionsgefahr kritisch, besonders im Hinblick auf BSE und Kreutzfeld-Jakob Erkrankungen. Zudem können durch Eiweißstoffe
5 Immunreaktionen im Körper ausgelöst werden.

Chitin ist in der Natur ein weitverbreitetes lineares, stickstoffhaltiges Polysaccharid und bildet den Hauptbestandteil des Außenskelettes von Gliederfüßern (Maikäferflügel, Hummer- und Garnelenschalen). In
10 konzentrierter Natronlauge entsteht aus Chitin das Deacetylierungsprodukt Chitosan, welches im Gegensatz zum Chitin freie Aminogruppen besitzt und in schwach saurem, wässrigem Medium löslich ist. Das Degradationsverhalten von reinem und mit Glutaraldehyd behandelten Chitosan sowie die akute Toxizität und die hämostatische
15 Wirkung von Chitosan wird von Rao et al. beschrieben (J. Biomed. Mater. Res. 1997, 34, 21-28). Aufgrund der antimikrobiellen und hämostatischen Wirkung in Kombination mit ihrer hohen Biokompatibilität sind Chitosan und Chitin vielversprechende Substanzen für medizinische Produkte. In US-Patent 6,124,273 werden
20 Proteine in Chitosanschwämme eingearbeitet und die Zusammensetzung bei äußerlichen Wunden eingesetzt. Die Chitosanschwämme setzen dabei die Proteine frei und beschleunigen die Wundheilung. Ono et al. beschreiben einen biologischen Gewebekleber aus photovernetztem Chitosan (K. Ono, et al., J. Biomed.
25 Mater. Res. 2000, 49, 289-295). Die Vernetzung erfolgt durch Bestrahlung mit UV-Licht. Diese teure und aufwendige Technik hat sich in der Praxis, wie bereits erwähnt, nicht durchgesetzt. Zudem ist die Haftkraft dieses Adhäsives unzureichend, sie liegt im Bereich der Fibrinkleber.

30

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Zusammensetzung zu schaffen, welche die genannten Nachteile des Standes der Technik

überwindet, insbesondere die Gefahr der Übertragung von Infektionskrankheiten vermeidet.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch eine Zusammensetzung mit
5 den Merkmalen des Anspruchs 1 gelöst. Bevorzugte Aus- bzw. Weiterbildungen der erfindungsgemäßen Zusammensetzung sind in den Unteransprüchen gekennzeichnet.

Durch die Tatsache, daß die erfindungsgemäße Zusammensetzung frei
10 von Eiweiß ist, ist die Gefahr einer Übertragung von Infektionskrankheiten, die bei einer Verwendung von Eiweiß (z.B. Kollagen) gegeben ist, ausgeschaltet. Dies ist insbesondere im Hinblick auf eine mögliche Übertragung von BSE-Erregern auf den Menschen ein großer Vorteil gegenüber den, im Stand der Technik beschriebenen
15 eiweißhaltigen Zusammensetzungen. Zudem ist auch die Gefahr von eiweißbedingten Immunreaktionen bei der erfindungsgemäßen, eiweißfreien Zusammensetzung gebannt.

Ein weiterer Vorteil der erfindungsgemäßen Zusammensetzung besteht
20 darin, daß die Gelierung der Komponenten spontan erfolgt und keine zusätzlichen Energiequellen erforderlich sind. Dadurch ist die Applikation vereinfacht und verläuft gewebeschonend, da das gesunde Gewebe nicht z. B. durch übermäßig hohe Wärmeenergie beeinträchtigt wird.

25 Ein weiterer Vorteil der Erfindung ist es, daß die Komponenten in wässrigem Medium appliziert werden können und dadurch eine bessere Bedeckung der Wundfläche gewährleistet ist als dies beispielsweise bei vorgeformten Patches der Fall ist (vgl. z.B. US 6,051,648).

30 Bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Zusammensetzung sind der Aldehyd und das

aminogruppentragende Polymer bei Körpertemperatur miteinander vernetzbar. Dadurch können die oben genannten zusätzlichen Energiequellen vermieden werden, was wiederum Gewebeschädigungen vermeidet.

5

Vorzugsweise ist das aminogruppentragende Polymer von einem biologisch abbaubaren Naturstoff abgeleitet. Besonders bevorzugt ist es, daß das aminogruppentragende Polymer ein Polysaccharid, insbesondere ein modifiziertes Saccharid, bei dem die Aminogruppen durch Deacetylierung freigesetzt sind, ist. Bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Zusammensetzung ist das aminogruppentragende Polymer ein mindestens teilweise deacetyliertes Chitin mit einem Deacetylierungsgrad von 50 bis 100 %, vorzugsweise 60 bis 90 %, insbesondere 70 bis 80 %. Durch die Deacetylierung werden die Acetamidgruppen im Chitin in Aminogruppen umgewandelt. Dies bewirkt u.a. wiederum, daß der Abbau im Körper langsamer verläuft als bei (nicht deacetyliertem) Chitin. Besonders bevorzugt ist es, wenn das aminogruppentragende Polymer Chitosan ist. Chitosan hat eine blutgerinnende Wirkung. Deacetyliertes Chitin, insbesondere Chitosan, wird vorzugsweise in wasserlöslicher Salzform eingesetzt (Chlorid, Acetat, Glutamat).

15
20

Bei einer weiteren Ausführungsform der erfindungsgemäßen Zusammensetzung ist das Aminogruppen tragende Polymer ein synthetisches Polymer, insbesondere ein nierengängiges Polymer. Dies hat den Vorteil, daß eine einfache Ausscheidung des aminogruppentragenden Polymers über den Urin möglich ist. Vorteilhafterweise ist das synthetische Polymer ein modifizierter aminogruppentragender Polyvinylalkohol, vorzugsweise mit einem Molekulargewicht ≤ 50.000 , insbesondere < 50.000 , vorzugsweise ≤ 20.000 , insbesondere < 20.000 .

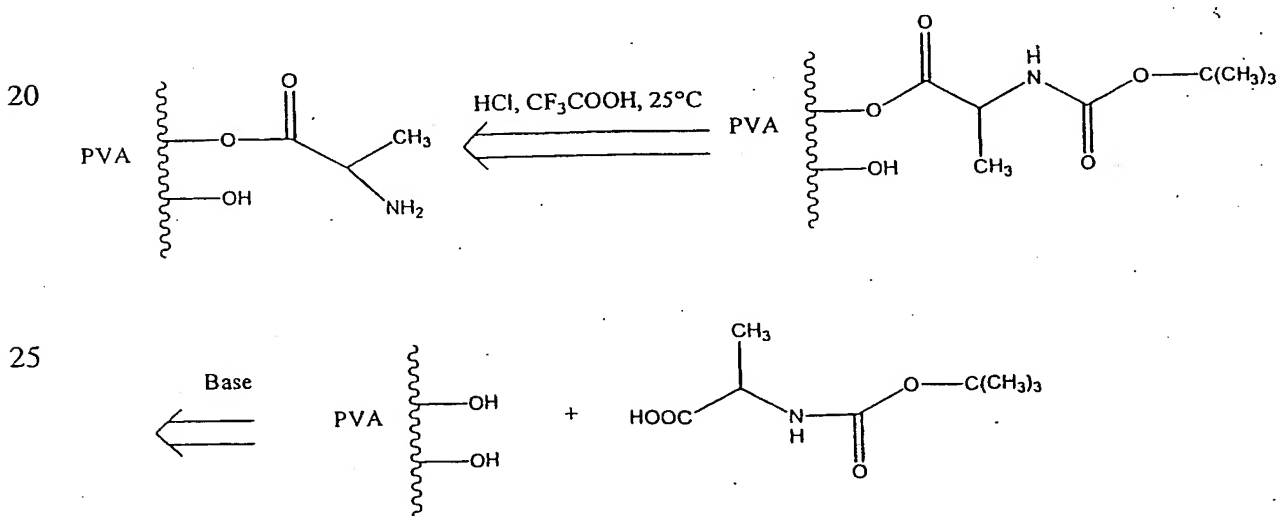
25
30

Beispiele für die Modifizierung von Polyvinylalkohol sind die Veresterung von Polyvinylalkohol mit Aminosäuren, die Veresterung mit Dicarbonsäuren bzw. -anhydriden verbunden mit einer Amidbildung mit mehrwertigen Aminen, insbesondere Diaminen, und die Bildung zyklischer Acetale.

Der Modifizierungsgrad kann beliebig eingestellt werden und ist nicht auf die Kettenenden beschränkt wie zum Beispiel bei PEG oder Polyhydroxyalkanoaten. Als weitere multifunktionelle Polymere mit freien Hydroxygruppen stehen auch Polysaccharide wie Dextran, Cellulose, Chitosan, Hyaluronsäure, Alginsäure, Stärke, Agar, Chitin und Chondroitinsulfat zur Verfügung.

Beispiele für Modifikationen von Polyvinylalkohol (PVA)

a) Retrosynthese von Alanin modifiziertem PVA

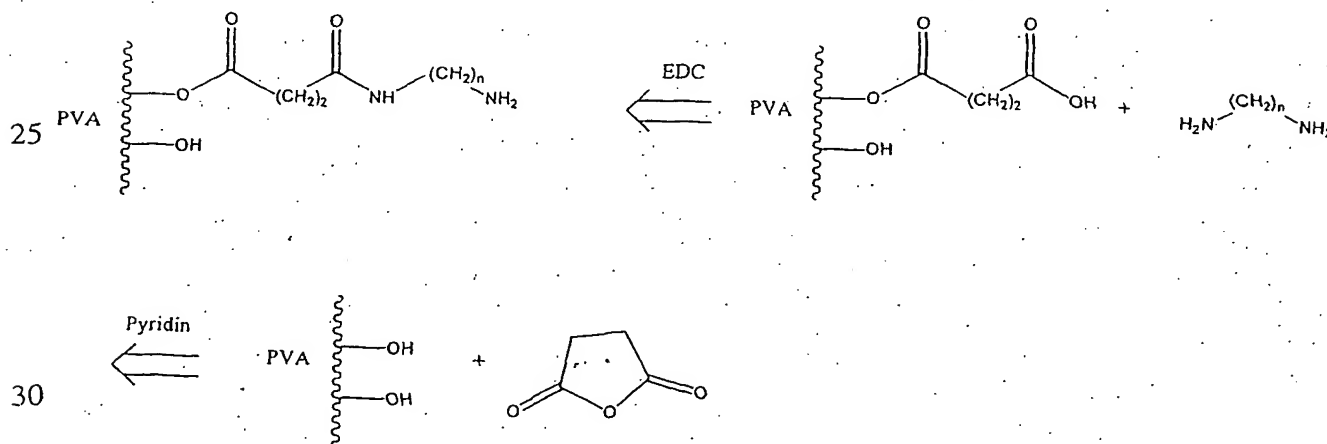


Die Anbindung von Aminosäuren an Polyvinylalkohol erfolgt in zwei Schritten. Zuerst wird der Alkohol mit einem BOC geschützten Alanin verestert. Als Katalysator wird eine Base hinzugefügt. Die Reaktion muss in wasserfreiem Lösungsmittel durchgeführt werden. Nach erfolgreicher Anbindung kann die BOC Schutzgruppe unter milden Bedingungen bei Raumtemperatur mit Trifluoressigsäure abgespalten werden. Prinzipiell kann jede beliebige Aminosäure auf diese Weise angebunden werden, bevorzugt sind jedoch Aminosäuren mit zusätzlichen Thiol- oder Hydroxygruppen, wie z.B. Cystein, Serin, Threonin, Tyrosin, besonders bevorzugt sind Aminosäuren mit weiteren Aminogruppen wie z.B. Asparagin, Lysin, Glutamin, Arginin oder Tryptophan. Ebenso ist die Anbindung einer Mischung aus den erwähnten Aminosäuren denkbar.

15 Vorteil:

- keine Amidbindungen, Esterbindungen sollten hydrolytisch spaltbar sein
- Abbauprodukt ist eine Aminosäure (toxikologisch unbedenklich):

20 b) Retrosynthese mit Bernsteinsäureanhydrid und Diamin



Die Anbindung von freien Aminogruppen an Polyvinylalkohol über zyklische Disäureanhydride erfolgt ebenfalls in zwei Stufen. Im ersten Schritt wird das Anhydrid mit Hilfe einer katalytisch wirkenden Base EDC an den Alkohol gebunden. Anschließend erfolgt die Umsetzung mit einem Diamin. Das Diamin sollte im Überschuss eingesetzt werden, um eine Vernetzung des Polyvinylalkohols während der Reaktion zu vermeiden. Als Disäureanhydride können u.a. auch Maleinsäureanhydrid, Adipinsäureanhydrid oder Glutarsäureanhydrid verwendet werden.

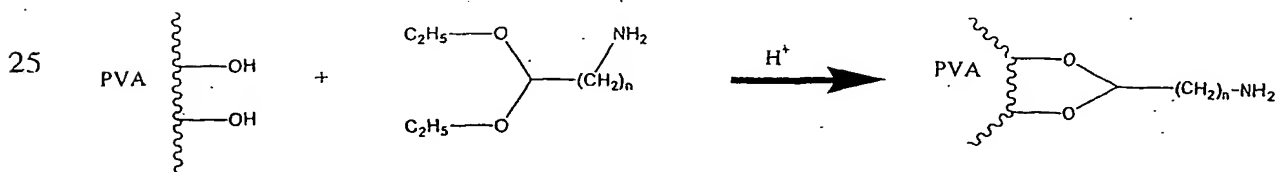
10

Vorteil:

- Ausgangssubstanzen sind sehr günstig
- Anbindung an PVA durch Esterbindung kann leicht abgebaut werden
- Diamine könnten toxikologisch problematisch sein (mögliche Ersatz durch Triethylenglycoldiamin) ($\text{NH}_2\text{-C}_2\text{H}_4\text{-O-C}_2\text{H}_4\text{-O-C}_2\text{H}_4\text{-NH}_2$)

15

20 c) Einführung von terminalen Aminogruppen über zyklische Acetale



30

BEST AVAILABLE COPY

Über Acetalbindungen lassen sich in einem Schritt terminale Aminogruppen in den Polyvinylalkohol einbringen. Die Bildung des zyklischen Acetals ist dabei energetisch bevorzugt. Die Kettenlänge des Spacers kann variiert werden, bevorzugt ist $n \leq 4$, besonders bevorzugt ist $n = 1$.

Vorteile:

- Einführung der Aminogruppe in einem einzigen Syntheseschritt
- Keine Schutzgruppenchemie, eine Vernetzung während der Reaktion ist nicht zu erwarten.

Es können auch Kombinationen von aminogruppentragenden Polysacchariden und aminogruppentragenden Polyvinylalkoholen zur Anwendung kommen.

Mit Vorteil ist der Aldehyd ein Polyaldehyd. Dieser ist vorzugsweise biologischen Ursprungs. Bei einer bevorzugten Ausführungsform der Zusammensetzung ist der Aldehyd ein oxidiertes Polysaccharid. Es ist besonders bevorzugt wenn sowohl das Aminogruppen tragende Polymer als auch der Aldehyd Polysaccharidgerüste aufweisen. Bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform der Zusammensetzung ist der Aldehyd ein oxidiertes Polysaccharid, wobei das Polysaccharid mindestens eines aus der Gruppe von Dextran, Chitin, Stärke, Agar, Cellulose, Alginsäure, Glycosaminoglykane, Hyaluronsäure, Chondroitinsulfat und deren Derivate ist. Dextranaldehyd ist bevorzugt. Der Aldehyd, insbesondere der Dextranaldehyd, besitzt vorzugsweise ein Molekulargewicht von ca. 60.000 bis 600.000, insbesondere ca. 200.000. Höhere Molekulargewichte, insbesondere von mindestens 200.000, bringen hohe Vernetzungsgrade.

Vorteilhafterweise ist der Aldehyd teilweise oder vollständig maskiert. Zweck der Maskierung, insbesondere von oxidierten Polyaldehyden, ist es, die Bildung von intermolekularen Acetalen zu vermeiden und somit die Stabilität der Lösungen zu gewährleisten. Die kontrollierte
5 Freisetzung der Aldehyde erfolgt schließlich in situ durch kontrollierte Hydrolyse in einem pH-Bereich von 2 bis 6, bevorzugt 2 bis 4,5. Es ist besonders bevorzugt, daß der Aldehyd mit einem S-, O- oder N-Nukleophil maskiert ist. Mit Vorteil ist der teilweise oder vollständig maskierte Aldehyd ein Polysaccharidalkalihydrogensulfitaddukt. Bei
10 einer weiteren Ausführungsform der erfindungsgemäßen Zusammensetzung ist der Aldehyd teilweise oder vollständig mit Ethanol oder Glycerol maskiert.

Mit Vorteil sind die pH-Werte der Komponenten so abgestimmt, daß der
15 pH-Wert einer Mischung der Komponenten zwischen 3 und 8, insbesondere zwischen 5 und 7,5 liegt. Ein hoher pH-Wert begünstigt zwar eine Vernetzung, führt aber zum Ausfallen von beispielsweise Chitosan.

20 Es ist insbesondere der Aldehyd, der für die Klebekraft verantwortlich ist und die Bindung an das Gewebe ermöglicht, jedoch ist allein durch den Aldehyd keine Bedeckung des Gewebes möglich. So ist vorteilhafterweise die stöchiometrische Menge an Aldehydgruppen in Komponente b) mindestens die dreifache der stöchiometrischen Menge
25 an Aminogruppen in Komponente a).

Vorteilhafterweise sind die Komponenten so aufeinander abgestimmt, daß sie nach Vereinigung in kurzer Zeit, insbesondere einer Zeit von 15 bis 200 Sekunden, miteinander vernetzen. Die Vernetzungszeit kann
30 zum Beispiel durch die Konzentration der Lösungen und über das Mischungsverhältnis gesteuert werden. Der Vernetzungsgrad kann

ebenfalls eingestellt werden, nämlich über die Zahl der Aldehydgruppen des Aldehyds.

Auch die Viskosität der Zusammensetzung ist steuerbar.
5 Vorteilhafterweise sind die Viskositäten der Komponenten so aufeinander abgestimmt, daß eine Schicht der Zusammensetzung mit einer Dicke von 0,1 bis 1 mm applizierbar ist.

Die genannten Einstellungsmöglichkeiten (z.B.
10 Vernetzungsgeschwindigkeit, Viskosität, Reaktivität) sind bei Zusammensetzungen mit Gelatine oder Kollagen, die je nach ihrem Ursprung verändert sind und keine definierten Reaktionen erlauben, nicht gegeben.

15 Vorteilhafterweise beträgt der Gehalt von Komponente b) an Aldehyd 5 bis 20 Gew.%, insbesondere 10 bis 15 Gew.%. Vorzugsweise beträgt der Gehalt von Komponente a) an aminogruppentragendem Polymer 1 bis 25 Gew.%, insbesondere 2 bis 20 Gew.%. Die Volumenverhältnisse der beiden Lösungen a) : b) liegen zwischen 5:1 und 1:5, vorzugsweise
20 zwischen 3:1 und 1:3. Liegen sie, was in vielen Fällen bevorzugt ist, bei 1:1, dann können in einfacher Weise gleiche Volumina miteinander gemischt werden.

Bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform der
25 erfindungsgemäßen Zusammensetzung ist die Komponente a) eine essigsaure Lösung von Chitosan und Komponente b) eine wässrige Lösung von Dextranaldehyd. Dextran zeichnet sich beispielsweise gegenüber Glutaraldehyd (vgl. z.B. US 5,385,606) dadurch aus, dass es nicht toxisch ist.

30

Die Erfindung betrifft außerdem die Bereitstellung der erfindungsgemäßen Zusammensetzung zur Verwendung als

chirurgischer Kleber, insbesondere zum Versiegeln oder Verschließen von Oberflächen bzw. Öffnungen.

Bevorzugt werden die Komponenten kurz vor einer Applikation miteinander vermischt. Dies kann beispielsweise mit Hilfe einer
5 Zwillingspritze von statten gehen, bei der die beiden Komponenten in ein gemeinsames Auspressrohr, in dem sich ein statischer Mischer befindet, hineingedrückt werden. Durch den statischen Mischer im Auspressrohr werden die beiden Komponenten miteinander vermischt und werden, kurz bevor sie miteinander vernetzen, aus der Spritze auf
10 die Applikationsstelle ausgepresst.

Es ist weiterhin auch möglich, daß die Komponenten erst auf einer Applikationsstelle vermischt werden, indem die beiden Komponenten beispielsweise kurz nacheinander auf eine Applikationsstelle
15 aufgetragen werden.

Die Erfindung beansprucht auch einen Kit, bestehend aus zwei, bezogen auf den Inhalt, im wesentlichen getrennten Behältnissen, wobei jedes Behältnis jeweils eine Komponente der erfindungsgemäßen
20 Zusammensetzung enthält. Bei einer bevorzugten Ausführungsform fungieren die beiden Behältnisse als Spritzenzylinder einer Doppelspritze. Bei einer solchen Doppelspritze, die auch Zwillingspritze genannt wird, werden die getrennt gelagerten Komponenten in ein gemeinsames Auspressrohr gedrückt. Vorteilhafterweise weist der Kit
25 eine Einrichtung zum Vermischen der Komponenten auf. Besonders bevorzugt ist es, daß der Kit einen statischen Mischer aufweist, der insbesondere auf eine Doppelspritze aufsteckbar ist. Dieser statische Mischer befindet sich insbesondere im Auspressrohr der Doppelspritze. Bei einer weiteren Ausführungsform ist die Doppelspritze an der
30 Aufsteckstelle des Auspressrohres verschließ- und öffenbar.

Figurenbeschreibung

- 5 Figur 1 zeigt einen schematischen Längsschnitt durch eine bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemäßen Kits.

Die in der einzigen Zeichnung dargestellte bevorzugte Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Kits zeigt einen Längsschnitt durch eine
10 Doppelspritze 1. Diese Doppelspritze besteht aus zwei zusammenhängenden Spritzenzylindern 2a und 2b, welche die beiden Komponenten bei der erfindungsgemäßen Zusammensetzung getrennt beinhalten. Die Volumenverhältnisse der beiden Spritzenzylinder sind auf das Mischungsverhältnis der beiden Komponenten abgestimmt. Im
15 vorliegenden Ausführungsbeispiel weisen die beiden Spritzenzylinder 2a und 2b gleiche Volumina an zwei Komponenten einer erfindungsgemäßen Zusammensetzung auf. Es ist auch möglich Doppelspritzen zu verwenden, bei denen die Volumina verschieden sind, beispielsweise die Zylinder verschieden große Durchmesser
20 haben.

Ferner umfasst die Doppelspritze 1 zwei Spritzenstempel 3a und 3b, die durch eine Verbindungsplatte 4 miteinander verbunden sind. Am oberen Ende der beiden Spritzenstempel 3a und 3b sind jeweils zwei
25 Kolbendichtringe 5a und 5b aufgebracht. Diese Kolbendichtringe schließen im wesentlichen luftdicht mit den Wandungen der beiden Spritzenzylinder 2a und 2b ab. An ihrem oberen Ende weist jeder der beiden Spritzenzylinder 2a und 2b jeweils eine, direkt aneinander angrenzende Öffnung 6a bzw. 6b auf. Diese Öffnungen sind bis zum
30 ersten Gebrauch verschlossen.

Auf die beiden angrenzenden Öffnungen 6a und 6b ist nach deren Öffnen ein Auspressrohr 7 aufsteckbar. Im Auspressrohr 7 befindet sich ein statischer Mischer 8. An seinem oberen Ende verschmälert sich das Auspressrohr zu einer Auspressöffnung 9.

5

Beispielsweise durch Druck auf die Verbindungsplatte 4 und Gegendruck auf die Platte 10 bewegen sich die beiden Spritzenstempel 3a und 3b mit den daran befestigten Kolbendichtringen 5a und 5b in Richtung der Öffnungen 6a und 6b. Dadurch werden die beiden in den Spritzenzylindern befindlichen Komponenten aus den Öffnungen 6a und 6b in das Auspressrohr 7 gedrückt. Insbesondere durch den im Auspressrohr 7 befindlichen statischen Mischer 8 werden die beiden Komponenten im Auspressrohr innig miteinander vermischt und werden schließlich in vermischtem Zustand aus der Auspressöffnung 9 auf eine Applikationsstelle gedrückt.

10
15

Beispiel einer erfindungsgemäßen Zusammensetzung:

1. Zusammensetzung

20

Lösung A: wässrige Lösung von Chitosan

Lösung B: wässrige Lösung von Dextranaldehyd

25

Durch Mischen der beiden Lösungen bildet sich ein Gel aus, welches adhäsive Eigenschaften besitzt. Die Gelierung beruht auf der Ausbildung von Iminen (Schiff'schen Basen) zwischen den Aldehydgruppen im oxidierten Dextran und den freien Aminogruppen im Chitosan (s. Reaktionsschema Angang 1).

30

Alternativ zur Chitosanlösung können auch Lösungen von modifizierten Polysacchariden (mit Aminen modifiziertes Dextran) oder synthetischen

Polymeren (mit Aminen modifizierter Polyvinylalkohol) verwendet werden.

5 1.1. Chitosanlösung

2g Chitosan werden in 100 ml 2%ige Essigsäurelösung (v/v) gegeben und fünf Tage bei Raumtemperatur gerührt.

- 10 Als Alternative hierzu wird eine 4 %ige wässrige (w/v) Protasan® UP CI 213 (Fa. FMC Biopolymers, Drammen, Norwegen) Lösung (VE-Wasser) verwendet. Bei Protasan® UP CI 213 handelt es sich um ein Chitosansalz mit Chlorid als Gegenion.

15 1.2 Synthese von Dextranaldehyd

- Die zur Synthese verwendete 5%ige (w/v) Natriumperiodatlösung wird vor jeder Umsetzung frisch hergestellt und mit einer 10%igen (w/v) Dextranlösung vereinigt. Zur Herstellung der Dextranaldehyde können
20 unterschiedliche stöchiometrische Verhältnisse verwendet (s. Tabelle 1) werden. Die Reaktionsmischung wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, 2 Tage gegen destilliertes Wasser dialysiert und schließlich die aufgereinigte Reaktionslösung lyophilisiert. Das Reaktionsprodukt ist ein
25 weißer faserartiger Feststoff.

Name	Molares Verhältnis NaIO ₄ : Dextraneinheit	Menge Dextranaldehydlösung	Menge NaIO ₄ - Lösung	Anteil an oxidierten Glucoseeinheiten (%)
DA 3	3:5	300 ml 180 mmol	460 ml 108 mmol	30
DA 4	4:5	300 ml 180 mmol	612 ml 144 mmol	33
DA 5	5:5	300 ml 180 mmol	765 ml 180 mmol	49
DA 6	2:1	300 ml 180 mmol	1430 ml 360 ml	91
DA 8	4:1	150 ml 90 mmol	1430 ml 360 ml	100

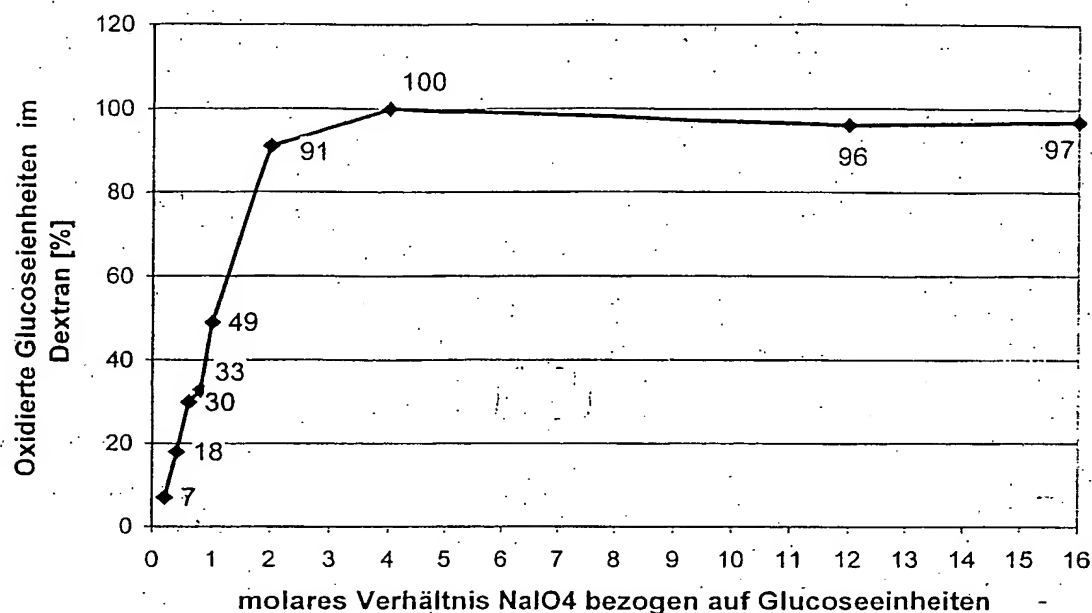
Tabelle 1: Stöchiometrische Mengenverhältnisse der durchgeführten Synthesen

5

Von den auf die oben beschriebene Weise hergestellten Dextranaldehyden werden 15%ige Lösungen (w/v) hergestellt, indem 4,5g Dextranaldehyd in 30 ml destilliertes Wasser gegeben und über Nacht im Wasserbad bei 37°C geschüttelt werden. Für die Gelierung ist es vorteilhaft den pH-Wert der Dextranaldehydlösung durch Zugabe eines Phosphatpuffers zu erhöhen.

10

Anteil an oxidierten Glucoseeinheiten im Dextran in Abhängigkeit vom molaren Verhältnis NaIO_4 pro Glucoseeinheiten



1.3 Molekulargewicht Dextran

Das mittlere Molekulargewicht im Dextran wurde variiert. Es wurde Dextran mit einem mittleren MW von 60.000 bis 90.000 Dalton (Fa. Fischer Scientific, Schwerte, Deutschland) und Dextran mit einem höheren mittleren MW von 413.263 Dalton (Fa. Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland) eingesetzt.

Das Molekulargewicht hatte keine Auswirkung auf den Anteil von oxidierten Glucoseeinheiten in Abhängigkeit von der eingesetzten Menge an NaIO_4 .

Bestimmung des Aldehydgehalts

Die Bestimmung des prozentualen Anteils an oxidierten Glucoseeinheiten erfolgte titrimetrisch analog der Literatur [B.T. Hofreiter, B.H. Alexander, I.A. Wolff, Anal. Chem. 1955, 27, 1930ff.]

0,15 g Dextranaldehyd werden in einem Erlenmeyerkolben vorgelegt und anschließend mit 10 ml einer 0,25 N carbonatfreien NaOH Lösung versetzt. Die Mischung wird gerührt bis der eingesetzte Dextranaldehyd gelöst ist. Danach wird der Kolben für eine Minute in ein heißes Wasserbad (80°C) getaucht und anschließend unter starkem Rühren ins Eisbad gestellt. Nach einer Minute werden unter Rühren vorsichtig 15 ml 0,25 N Schwefelsäure hinzugegeben. Die Mischung wird anschließend mit 50 ml Wasser verdünnt und mit 1ml 0,2 %iger Phenolphthaleinlösung versetzt. Die saure Lösung wird mit 0,25 N NaOH Lösung gegen den Indikator titriert.

Aus der zugegebenen Menge an Dextran bzw. Dextranaldehyd sowie dem Verbrauch an Säure und Base berechnet sich der Dialdehydgehalt X wie folgt:

$$X = \left[\frac{(n_{eqBase} - n_{eqSäure})_{DA}}{\frac{W_{DA}}{161}} - \frac{(n_{eqBase} - n_{eqSäure})_{Dextran}}{\frac{W_{Dextran}}{162}} \right] \times 100\%$$

X: Dialdehydgehalt

$n_{\text{eqSäure}}$: Äquivalentstoffmenge der Säure

n_{eqBase} : Äquivalentstoffmenge der Base

W_{DA} : Trockengewicht Dextransaldehyd

5 W_{Dextran} : Trockengewicht Dextran

n_{NaOH} : Normalität des NaOH Titers

$n_{\text{H}_2\text{SO}_4}$: Normalität der verwendeten H_2SO_4 -Lösung

10 In weiteren Syntheseansätzen wurde das optimale stöchiometrische Verhältnis NaIO_4 pro Glucoseeinheit Dextran ermittelt. Nachfolgende Grafik zeigt, dass ab einem stöchiometrischen Verhältnis NaIO_4 pro Glucoseeinheit Dextran von 2:1 der prozentuale Anteil an oxidierten Glucoseeinheiten über 90 % liegt.

15 2. Gelierungszeit der beiden Lösungen

Die Gelierungszeit hängt vom verwendeten Dextransaldehyd sowie vom Mischungsverhältnis der Dextransaldehyd- und der Chitosanlösung ab. Die Gelierungszeit nimmt mit zunehmendem Oxidationsgrad des
20 Dextransaldehyds und mit zunehmendem Verhältnis 15%ige Dextransaldehydlösung: 2%ige Chitosanlösung zu. Sie liegt zwischen 15 und 200 Sekunden.

Dextranaldehyd	Verhältnis 2%ige Chitosan/15%ige Dextranaldehydlösung (ml)	
	0,5/1,5	1,0/1,0
DA 3	115 ± 31 s	340 ± 56 s
DA 4	64 ± 10 s	194 ± 54 s
DA 5	15 ± 2,9 s	78 ± 33 s
DA 6	19 ± 2s	15 ± 2s

5 Tabelle 2: Gelierungszeiten in Abhängigkeit vom verwendeten Dextranaldehyd und vom Mischungsverhältnis der Lösungen

3. Bestimmung der Haftscherkraft

10 Die Haftscherkraft des neuen Gewebeklebers wird mit Hilfe von gereinigtem und lyophilisiertem Kollagen Typ I aus Rinderherzbeuteln (Lyoplant, BBraun Aesculap, Tuttlingen) bestimmt. Hierzu wird das Lyoplant zu Streifen mit 40 mm Länge und 10 mm Breite zugeschnitten, an deren Ende die zu verklebende Fläche von 1 cm² markiert wird. Die

15 Die entsprechenden Mengenverhältnisse (s. Tabelle) Chitosan- und Dextranaldehydlösung werden in einem Reagenzglas vereinigt und 2 Sekunden geschüttelt, um eine gute Durchmischung der Lösungen zu erhalten. Anschließend werden jeweils 20 µl zentriert auf die zu verklebende Fläche aufgetragen. Die Klebefläche wird mit einer Folie
20 vor dem Austrocknen geschützt und 10 Minuten mit 50g belastet. Danach werden die Streifen mit einer Zuggeschwindigkeit von 100 mm/min auseinandergezogen. Die Versuche wurden mit zwei unterschiedlichen Chargen Dextranaldehyd durchgeführt und der

Mittelwert aus $n = 13$ Versuchen ermittelt. Die Ergebnisse der Versuche sind in Tabelle 3 bis 5 aufgelistet.

Volumenverhältnis 2%ige Chitosanlösung/15%ige DA(3)Lösung	Haftscherkraft DA 3 Charge 1 (kPa)	Haftscherkraft DA 3 Charge 2 (kPa)
3:1	$121 \pm 27,6$	$110 \pm 27,6$
1:1	$167 \pm 34,4$	$154 \pm 25,7$
1:3	$137 \pm 38,8$	$153 \pm 33,5$

5

Tabelle 3: Vergleich der Haftscherkraft von DA 3 Charge 1 und 2 in Abhängigkeit vom Mischungsverhältnis 2%ige Chitosanlösung: 15%ige DA(3)Lösung

Volumenverhältnis 2%ige Chitosanlösung / 15%ige DA(4) Lösung	Haftscherkraft DA 4 Charge 1 (kPa)	Haftscherkraft DA 4 Charge 2 (kPa)
3:1	128 ± 56	$163 \pm 56,8$
1:1	$124 \pm 36,4$	$175 \pm 22,2$
1:3	$167 \pm 54,1$	$192 \pm 71,8$

10

Tabelle 4: Vergleich der Haftscherkraft von DA 4 Charge 1 und 2 in Abhängigkeit vom Mischungsverhältnis 2%ige Chitosanlösung zu 15%ige DA(4)Lösung

Volumenverhältnis 2%ige Chitosanlösung / 15%ige DA(5)Lösung	Haftkraft DA 5 Charge 1 (kPa)	Haftscherkraft DA 5 Charge 2 (kPa)
3:1	136 ± 38,7	159 ± 37,1
1:1	148 ± 47,2	187 ± 42,9
1:3	223 ± 46	20,6 ± 41,2

5 Tabelle 5: Vergleich der Haftscherkraft von DA 5 Charge 1 und 2 in
Abhängigkeit vom Mischungsverhältnis 2%ige
Chitosanlösung zu 15%ige DA(5)Lösung.

Die Haftscherkraft nimmt ebenso wie die Gelierungszeit mit zunehmendem Oxidationsgrad und zunehmender Menge an Dextranaldehydlösung zu.

10

Analog zur Bestimmung der Haftscherkraft der Dextranaldehyd/Chitosanmischung wurden Untersuchungen mit Dextranaldehyd und einem Polyvinylalkohol-vinylaminpfropf-polymerisat (PVALNH₂) durchgeführt. Das Pfropfpolymerisat wurde als 20%ige, wässrige Lösung vom Hersteller geliefert und in unverdünntem Zustand zur Klebung von Lyopplantstreifen eingesetzt. Die Präparation der Lyopplantstreifen und die Auftragung der Lösungen wurden identisch zu den Dextranaldehyd/Chitosanklebungen durchgeführt.

15

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in den nachfolgenden Tabellen aufgelistet:

20

Volumenverhältnis (20%) PVALNH ₂ -Lösung / 15%ige DA(4)Lösung	Haftscherkraft (kPa)
3:1	155 ± 25,9
1:1	138 ± 29,0
1:3	159 ± 30,6

Tabelle 6: Vergleich der Haftscherkraft von DA 4 Charge 3 in Abhängigkeit vom Mischungsverhältnis 20%ige PVALNH₂-Lösung zu 15%ige DA(4)-Lösung

Volumenverhältnis PVALNH ₂ -Lösung / 15%ige DA(5)Lösung	Haftscherkraft (kPa)
3:1	145 ± 34,3
1:1	130 ± 19,0
1:3	198 ± 67,4

Tabelle 7: Vergleich der Haftscherkraft von DA 5 Charge 5 in Abhängigkeit vom Mischungsverhältnis 20%ige PVAL-NH₂-Lösung zu 15%ige DA(5)Lösung

Zusätzliche Haftscherkraftuntersuchungen wurden mit höhermolekularem Dextranaldehyd und 4 % iger Protasanlösung durchgeführt. Die Lösungen wurden mit Hilfe eines Applikators der Firma Mixpac auf die Lyoplantstreifen aufgetragen. Der Applikator besteht aus einem Zweikammersystem mit aufgesetzter Mischerspitze. Das Lyoplant wurde zu Streifen mit einer Länge von 40 mm und einer Breite von 10 mm zugeschnitten, an deren Ende eine zu verklebende Fläche von 1 cm² markiert wurde. Die Lösungen wurden über den Mischer appliziert, die Klebefläche mit einer Folie abgedeckt, um diese vor dem Austrocknen zu schützen und 10 Minuten mit 50 g belastet. Danach wurden die Streifen mit einer Zuggeschwindigkeit von 100

mm/min. auseinandergezogen. Das mittlere MW des verwendeten Dextran beeinflusst die Haftscherkraft, wie in Tabelle 8 gezeigt wird:

5	Verwendetes DA	Chitosanlösung	Haftscherkraft [kPa]
	DA 6 niedriges mittleres MW (15%ige Lösung)	4%ige Protasanlösung	188 ± 38
	DA 6 hohes mittleres MW (15% Lösung)	4%ige Protasanlösung	278 ± 71

10

Tabelle 8: Vergleich der Haftscherkräfte des neuen Klebers in
15 Abhängigkeit vom mittleren Molekulargewicht des Dextranaldehyds.
Mischungsverhältnis der Lösungen 1:1

Ebenso wurden Klebeversuche mit Bioglue® (Cryolife International Inc. USA) bestehend aus Proteinen und Glutaraldehyd sowie mit GLUETISS
20 einem Gelatine-Resorcinol. Dialdehydkleber, die gemäss der
Gebrauchsanleitung auf die Lyoplaststreifen aufgetragen wurden,
durchgeführt. Die mit diesen Klebern verklebten Streifen wurden
ebenfalls mit einer Folie bedeckt und 10 Minuten mit 50 g belastet. Ein
Vergleich der erzielten Haftscherkräfte ist in Tabelle 9 gezeigt.

25

30

	Kleber	Zusammensetzung	Mischungs- verhältnis	Haftscherkraft [kPa]
5	Erfindungsgemässe Zusammensetzung	4%ige Protasan Cl 213 und 15ige% DA 6 Lösung	1/4	245 ± 68
	Erfindungsgemässe Zusammensetzung	4%ige Protasan Cl 213 und 15ige% DA 6 Lösung	1/1	278 ± 71
10	Erfindungsgemässe Zusammensetzung	4%ige Protasan Cl 213 und 15ige% DA 6 Lösung	2/1	262 ± 78
	Bioglue	Albuminlösung/ Glutaraldehydlösung	4/1	178 ± 54
15	Gluetiss	Gelatine Resorcinol Lösung / Dialdehydlösung	gemäß Vorschrift	167 ± 37

20

Tabelle 9: Vergleich der Haftscherkraft einer erfindungsgemässen Zusammensetzung mit BioGlue® und GLUETISS®

25

4. Stillung von Leberblutungen

Der chirurgische Kleber wurde zur Stillung von Blutungen an der Rattenleber (SPF Wistar Ratten) eingesetzt. Hierzu wurde eine Zusammensetzung aus einer 4 %igen wässrigen Protasanlösung und einer 15 %igen wässrigen Dextranaldehydlösung DA 6 gewählt. Die

30

Lösungen wurden in einem Mischungsverhältnis von 1:1 eingesetzt. Zum Mischen und Auftragen der Komponenten wurde ein Applikator der Firma Mixpac verwendet.

- 5 Nach der Betäubung der Ratten wurde an der Leber das Modell der Kreuzinzision (Länge derr Schnitte: 2,5 cm) gewählt. Der Kleber wurde direkt nach der Inzision auf die blutende Wunde aufgetragen. Es bildete sich ein Gel aus, welches fest an der Leberoberfläche haftete, so dass die Blutung unmittelbar nach der Auftragung des Klebers zum Stillstand
- 10 kam.

Patentansprüche

- 5 1. Zusammensetzung aus mindestens zwei, insbesondere zwei, biokompatiblen, untereinander chemisch vernetzbaren Komponenten, insbesondere zum Verkleben von biologischem Gewebe, umfassend mindestens folgende Komponenten:
- 10 a) wässrige Lösung mindestens eines aminogruppentragenden Polymers
- b) wässrige Lösung mindestens eines Aldehyds mit mindestens drei Aldehydgruppen,
- wobei die Zusammensetzung frei von Eiweiß ist.
- 15 2. Zusammensetzung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Aldehyd und das aminogruppentragende Polymer bei Körpertemperatur miteinander vernetzbar sind.
- 20 3. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass das aminogruppentragende Polymer von einem biologisch abbaubaren Naturstoff abgeleitet ist.
- 25 4. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das aminogruppentragende Polymer ein Polysaccharid, insbesondere ein modifiziertes Polysaccharid, bei dem die Aminogruppen durch Deacetylierung freigesetzt sind, ist.
- 30 5. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das aminogruppentragende Polymer Chitosan ist.

- 5 6. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet, dass das aminogruppentragende Polymer ein
mindestens teilweise deacetyliertes Chitin mit einem
Deacetylierungsgrad von 50 bis 100 %, vorzugsweise 60 bis 90 %,
insbesondere 70 bis 80 %, ist.
- 10 7. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
insbesondere nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass
das aminogruppentragende Polymer ein synthetisches Polymer,
insbesondere ein nierengängiges Polymer, ist.
- 15 8. Zusammensetzung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass
das synthetische Polymer ein modifizierter aminogruppentragender
Polyvinylalkohol ist, vorzugsweise mit einem Molekulargewicht ≤ 50.000
insbesondere ≤ 20.000 .
- 20 9. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet, dass der Aldehyd ein Polyaldehyd ist.
10. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet, dass der Aldehyd ein oxidiertes Polysaccharid
ist.
- 25 11. Zusammensetzung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass
das Polysaccharid mindestens eines aus der Gruppe von Dextran,
Chitin, Stärke, Agar, Cellulose, Alginsäure, Glykosaminoglykane,
Hyaluronsäure, Chondroitinsulfat und deren Derivaten ist.
- 30 12. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch
gekennzeichnet, dass der Aldehyd, insbesondere Dextranaldehyd, ein

Molekulargewicht von ca. 60.000 bis 600.000, insbesondere ca. 200.000, besitzt.

13. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Aldehyd teilweise oder vollständig maskiert ist.
5
14. Zusammensetzung nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass der Aldehyd mit einem S-, O- oder N-Nucleophil maskiert ist.
- 10 15. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 13 oder 14, dadurch gekennzeichnet, dass der teilweise oder vollständig maskierte Aldehyd ein Polysaccharidalkalihydrogensulfitaddukt ist.
- 15 16. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 13 oder 14, dadurch gekennzeichnet, dass der Aldehyd teilweise oder vollständig mit Ethanol oder Glycerol maskiert ist.
- 20 17. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Gehalt an Komponente b) an Aldehyd 5 bis 20 Gew.-%, insbesondere 10 bis 15 Gew.-% beträgt.
- 25 18. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Gehalt von Komponente a) an aminogruppentragendem Polymer 1 bis 25 Gew.-%, insbesondere 2 bis 20 Gew.-% beträgt.
- 30 19. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die pH-Werte der Komponenten so abgestimmt sind, dass der pH-Wert einer Mischung der Komponenten zwischen 3 und 8, insbesondere zwischen 5 und 7,5, liegt.

20. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die stöchiometrische Menge an Aldehydgruppen in Komponente b) mindestens die dreifache der stöchiometrischen Menge an Aminogruppen im aminogruppentragenden Polymer ist.
- 5
21. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Komponenten so aufeinander abgestimmt sind, dass sie nach Vereinigung in kurzer Zeit, insbesondere einer Zeit von 15 bis 200 sek, miteinander vernetzen.
- 10
22. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Viskositäten der Komponenten so aufeinander abgestimmt sind, dass eine Schicht der Zusammensetzung mit einer Dicke von 0,1 bis 1 mm applizierbar ist.
- 15
23. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 6 und 9 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass Komponente a) eine essigsäure Lösung von Chitosan ist und Komponente b) eine wässrige Lösung von Dextranaldehyd ist.
- 20
24. Bereitstellung der Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur Verwendung als chirurgischer Gewebekleber, insbesondere zum Versiegeln oder Verschließen von Oberflächen bzw. Öffnungen.
- 25
25. Verwendung nach Anspruch 24, dadurch gekennzeichnet, dass die Komponenten kurz vor einer Applikation miteinander vermischt werden.
26. Verwendung nach Anspruch 24, dadurch gekennzeichnet, dass die Komponenten auf einer Applikationsstelle vermischt werden.
- 30

27. Kit, bestehend aus zwei im wesentlichen getrennten Behältnissen, wobei die Behältnisse jeweils eine Komponente der Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 23 enthalten.
- 5 28. Kit nach Anspruch 27, dadurch gekennzeichnet, dass die beiden Behältnisse als Spritzenzylinder einer Doppelspritze fungieren.
29. Kit nach einem der Ansprüche 27 oder 28, dadurch gekennzeichnet, dass er eine Einrichtung zum Vermischen der Komponenten aufweist.
- 10 30. Kit nach einem der Ansprüche 27 bis 29, dadurch gekennzeichnet, dass er einen statischen Mischer aufweist, der insbesondere auf eine Doppelspritze aufsteckbar ist..
- 15
- 20

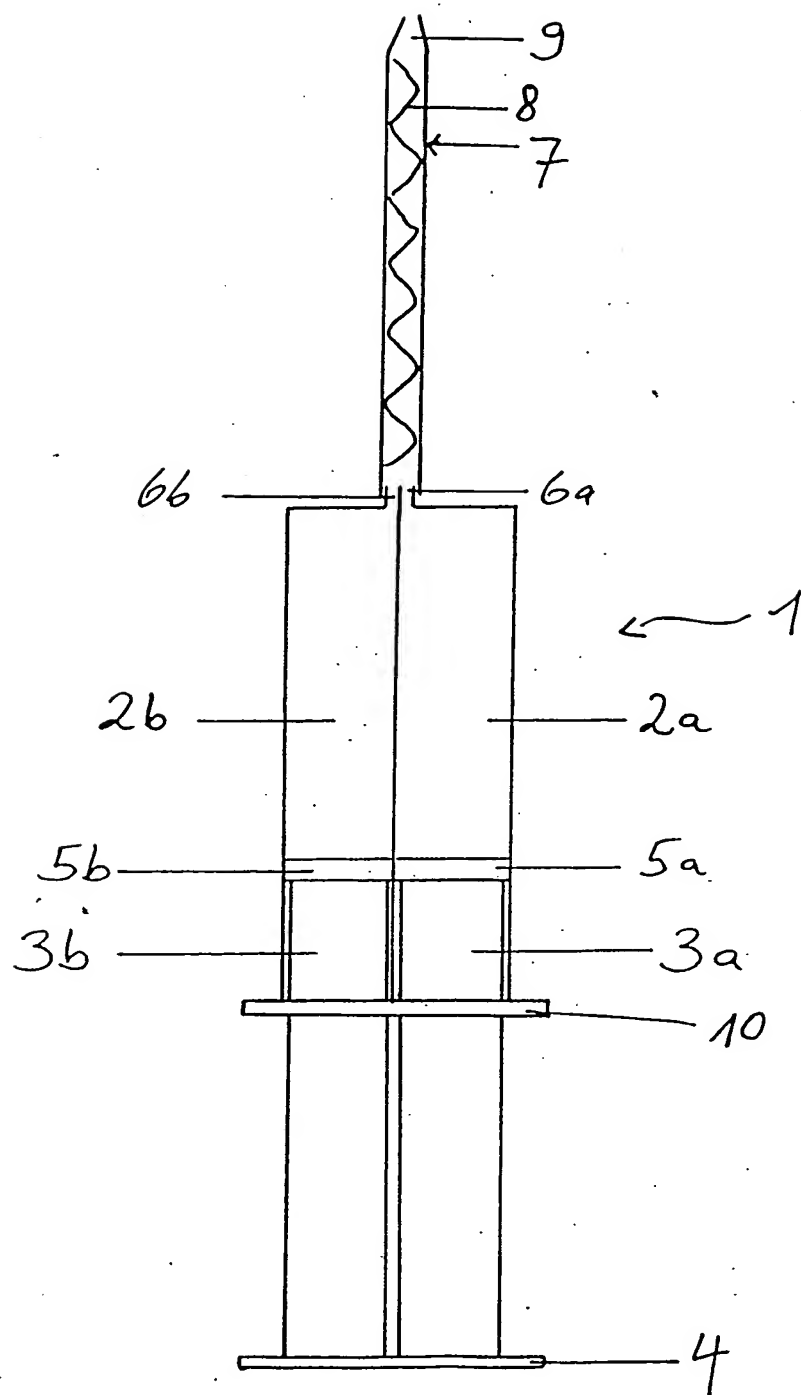


Fig. 1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 02/11880

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61L24/00 A61L24/08 A61L24/04 C08L5/08 C08L5/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61L C08L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, INSPEC, COMPENDEX, IBM-TDB, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99 01143 A (ORQUEST INC) 14 January 1999 (1999-01-14) examples I,II,III,VI - ---	1-4, 9-11,17, 18,21, 22,27
A	US 6 165 488 A (GRAVAGNA PHILIPPE ET AL) 26 December 2000 (2000-12-26) cited in the application claims 19,51 ---	25,26, 28-30
A	EP 0 413 136 A (KURARAY CO) 20 February 1991 (1991-02-20) example 1; table 1 --- -/--	5-7

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

30 January 2003

Date of mailing of the international search report

07/02/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651-epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Radke, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 02/11880

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 6 051 648 A (RHEE WOONZA M ET AL) 18 April 2000 (2000-04-18) cited in the application figure 10	8
A	HARRIS J M ET AL: "SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF POLY(ETHYLENE GLYCOL) DERIVATIVES" JOURNAL OF POLYMER SCIENCE, INTERSCIENCE PUBLISHERS, XX, vol. 22, 1984, pages 341-352, XP001020419 page 343 -page 344	5,6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In tional Application No
PCT/EP 02/11880

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9901143	A	14-01-1999	AU 752800 B2	03-10-2002
			AU 8290998 A	25-01-1999
			CN 1268057 T	27-09-2000
			EP 1011690 A1	28-06-2000
			JP 2002509538 T	26-03-2002
			NZ 502134 A	28-03-2002
			WO 9901143 A1	14-01-1999
			US 6303585 B1	16-10-2001
US 6165488	A	26-12-2000	FR 2754267 A1	10-04-1998
			FR 2754268 A1	10-04-1998
			AU 721494 B2	06-07-2000
			AU 4626997 A	05-05-1998
			BR 9706817 A	23-03-1999
			CA 2236306 A1	16-04-1998
			EP 0862468 A1	09-09-1998
			WO 9815299 A1	16-04-1998
			JP 2000503883 T	04-04-2000
			JP 3238711 B2	17-12-2001
			NZ 330572 A	28-02-2000
EP 0413136	A	20-02-1991	JP 2599793 B2	16-04-1997
			JP 3045656 A	27-02-1991
			DE 69007371 D1	21-04-1994
			DE 69007371 T2	06-10-1994
			EP 0413136 A2	20-02-1991
US 6051648	A	18-04-2000	US 5874500 A	23-02-1999
			US 6166130 A	26-12-2000
			US 2001003126 A1	07-06-2001
			US 2002042473 A1	11-04-2002
			US 2002013408 A1	31-01-2002
			AU 717660 B2	30-03-2000
			AU 1334497 A	14-07-1997
			EP 0876165 A1	11-11-1998
			JP 2000502380 T	29-02-2000
			WO 9722371 A1	26-06-1997

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

In internationales Aktenzeichen

PCT/EP 02/11880

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 A61L24/00 A61L24/08 A61L24/04 C08L5/08 C08L5/02

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A61L C08L

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, INSPEC, COMPENDEX, IBM-TDB, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 99 01143 A (ORQUEST INC) 14. Januar 1999 (1999-01-14) Beispiele I,II,III,VI ---	1-4, 9-11,17, 18,21, 22,27
A	US 6 165 488 A (GRAVAGNA PHILIPPE ET AL) 26. Dezember 2000 (2000-12-26) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche 19,51 ---	25,26, 28-30
A	EP 0 413 136 A (KURARAY CO) 20. Februar 1991 (1991-02-20) Beispiel 1; Tabelle 1 ---	5-7
	--- -/--	



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

30. Januar 2003

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

07/02/2003

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Radke, M

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 02/11880

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Beitr. Anspruch Nr.
A	US 6 051 648 A (RHEE WOONZA M ET AL) 18. April 2000 (2000-04-18) in der Anmeldung erwähnt Abbildung 10	8
A	HARRIS J M ET AL: "SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF POLY(ETHYLENE GLYCOL) DERIVATIVES" JOURNAL OF POLYMER SCIENCE, INTERSCIENCE PUBLISHERS, XX, Bd. 22, 1984, Seiten 341-352, XP001020419 Seite 343 -Seite 344	5,6

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 02/11880

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9901143 A	14-01-1999	AU 752800 B2	03-10-2002
		AU 8290998 A	25-01-1999
		CN 1268057 T	27-09-2000
		EP 1011690 A1	28-06-2000
		JP 2002509538 T	26-03-2002
		NZ 502134 A	28-03-2002
		WO 9901143 A1	14-01-1999
		US 6303585 B1	16-10-2001
US 6165488 A	26-12-2000	FR 2754267 A1	10-04-1998
		FR 2754268 A1	10-04-1998
		AU 721494 B2	06-07-2000
		AU 4626997 A	05-05-1998
		BR 9706817 A	23-03-1999
		CA 2236306 A1	16-04-1998
		EP 0862468 A1	09-09-1998
		WO 9815299 A1	16-04-1998
		JP 2000503883 T	04-04-2000
		JP 3238711 B2	17-12-2001
		NZ 330572 A	28-02-2000
EP 0413136 A	20-02-1991	JP 2599793 B2	16-04-1997
		JP 3045656 A	27-02-1991
		DE 69007371 D1	21-04-1994
		DE 69007371 T2	06-10-1994
		EP 0413136 A2	20-02-1991
US 6051648 A	18-04-2000	US 5874500 A	23-02-1999
		US 6166130 A	26-12-2000
		US 2001003126 A1	07-06-2001
		US 2002042473 A1	11-04-2002
		US 2002013408 A1	31-01-2002
		AU 717660 B2	30-03-2000
		AU 1334497 A	14-07-1997
		EP 0876165 A1	11-11-1998
		JP 2000502380 T	29-02-2000
		WO 9722371 A1	26-06-1997